DOI:10.11931/guihaia.gxzw202407044

广西喀斯特地区五个桑树品种叶功能性状及其抗旱性评价

覃兰丽[1]，陈观榕[1]，李燕婷[1]，谢彦军[1]，李晓东[1]，
黄康东[2]，文柳璎[3]，史沉鱼[1*]

（1. 广西蚕桑生态学与智能化技术应用重点实验室，广西现代蚕桑丝绸协同创新中心，微生物及植物资源开发利用广西高校重点实验室，河池学院化学与生物工程学院，广西 河池 546300；2. 河池市蚕业技术推广站，河池市蚕种场，广西 河池 546300；3. 百色市蚕业发展中心，广西 百色 533000）

摘　要：为筛选出适合广西喀斯特地区种植的抗旱性强的桑树品种，该研究以环江地区桂桑5号、桂桑6号、桂桑优12、农桑14号、育711号5个桑树品种作为试验材料，通过测定叶绿素、渗透调节物质、花青素、丙二醛、抗氧化酶活性以及导管直径、导管加固系数、叶片厚度、上下表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、气孔大小、气孔密度等24个叶功能性状指标，利用主成分分析、隶属函数和聚类分析，筛选出与抗旱性相关的叶功能性状指标及抗旱性较强的品种。结果表明：（1）主成分分析表明，与抗旱性相关的主要叶功能性状指标为叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、胡萝卜素、丙二醛、超氧化物歧化酶、气孔大小、气孔密度、导管加固系数、海绵组织。（2）根据隶属函数分析，5个桑树品种的抗旱性排名为，农桑14号 ＞ 桂桑优12＞ 桂桑5号 ＞ 桂桑6号 ＞ 育711号；进一步的聚类分析结果表明，农桑14号、桂桑优12、桂桑5号成为一类，桂桑6号、育711号组成另一类；两种分析结果很好地互相吻合。（3）农桑14号、桂桑优12、桂桑5号表现出更好的抗旱性，与它们具有更为高效的生理调节机制和优化的解剖结构有关。该研究结果为广西喀斯特地区桑树抗旱品种的筛选提供科学依据和理论参考。

关键词：喀斯特地区，桑树，叶功能性状，隶属函数，聚类分析，抗旱性

中图分类号：Q945　　　　　　　　**文献标识码**：A

Functional traits and drought resistance evaluation of leaves from five mulberry varieties in the Guangxi karst region

QIN Lanli[1], CHEN Guanrong[1], LI Yanting[1], XIE Yanjun[1], LI Xiaodong[1],
HUANG Kangdong[2], WEN Liuying[3], SHI Chenyu[1 *]

(1. *Guangxi Colleges Universities Key Laboratory of Exploitation and Utilization of Microbial and Botanical Resources*, *Guangxi Collaborative Innovation Center of Modern Sericulture and Silk*, *Guangxi Key Laboratory of Sericulture Ecology and Applied Intelligent Technology*, *Hechi University School of Chemistry and Bioengineering*, Hechi 546300, Guangxi, China; 2. *Hechi Sericulture Technology Extension Station*, *Hechi Silkworm Egg Production*

基金项目：广西自然科学基金（2024GXNSFAA010145）；河池学院科研项目（2021GCC023，2023XJYB011）；广西现代蚕桑丝绸协同创新中心基金资助（2024GXCSSC07）；河池市中央引导地方科技发展资金项目（河科ZY230301）；2023年度广西蚕桑生态学与智能化技术应用重点实验室运行补助项目（23-026-08）。

第一作者：覃兰丽（1997—），硕士，主要从事植物生理生态与进化，(E-mail)1549164918@qq.com。

[*]**通信作者**：史沉鱼，博士，教授，主要从事植物生理生态研究，(E-mail)shichenyu521@163.com。

Center, Hechi 546300, Guangxi, China;3. *Baise Sericulture Development Center*, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: In order to select drought-resistant *Morus alba* varieties suitable for planting in the karst areas of Guangxi, this study investigated five mulberry varieties from Huanjiang county, namely Guisang 5, Guisang 6, Guisangyou 12, Nongsang 14, and Yu 711. A total of 24 leaf functional traits were measured, including chlorophyll, osmotic regulatory substances, anthocyanins, malondialdehyde, antioxidant enzyme activities, as well as anatomical traits such as conduit diameter, conduit wall reinforcement, leaf thickness, upper and lower epidermis thickness, palisade mesophyll thickness, spongy mesophyll thickness, stomatal size, and stomatal density. These traits were evaluated through principal component analysis, membership function, and cluster analysis to identify leaf functional traits associated with drought resistance and to select the varieties with the strongest drought resistance. The results were as follows： (1) Principal component analysis revealed that the key leaf functional traits associated with drought resistance in the five mulberry varieties were chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotene, malondialdehyde, superoxide dismutase activity, stomatal size, stomatal density, conduit wall reinforcement, and spongy tissue thickness. These traits were found to have significant correlations with the drought resistance of the varieties. (2) The membership function analysis ranked the drought resistance of the five varieties as follows: Nongsang 14 > Guisangyou 12 > Guisang 5 > Guisang 6 > Yu 711. This ranking was confirmed by the subsequent cluster analysis, which grouped Nongsang 14, Guisangyou 12, and Guisang 5 together, while Guisang 6 and Yu 711 were placed in a separate group. The clustering results were consistent with the membership function analysis. (3) Nongsang 14, Guisangyou 12, and Guisang 5 exhibited the best drought resistance, which was attributed to their more efficient physiological regulation mechanisms and optimal anatomical features. The findings of this study provide a solid scientific foundation and valuable theoretical insights for the selection of drought-resistant mulberry varieties in the karst regions of Guangxi.

Key words: karst areas, *Morus alba,* leaf functional traits, membership function, clustering analysis, drought resistant

桑树（*Morus alba*）在我国已有超过 5 000 年的种植历史，是家蚕养殖的主要饲料来源（Jiao et al., 2020; 秦俭等，2010)。广西河池市目前是全国最大的蚕桑生产基地(黄康东等，2023)，其桑园面积、蚕茧产量等指标连续多年位居榜首，桑蚕产业已成为当地优势特色产业(陈张晴等，2023；唐燕梅等，2022)。然而，该地区属于典型的喀斯特地貌，分布有大量岩溶发育形成的石山丘陵和洼地，土层浅且保水性较差（Querejeta et al., 2007; Schwinning, 2008; Aritsara et al., 2023），桑树作为高水分消耗的树种(沈萩荻等，2019)，加上其较浅的根系结构(时连辉等，2005)，若在生长过程中遇到水分亏缺会导致其叶片泛黄，品质不佳，进而影响家蚕的养殖。因此，选择适合广西喀斯特地区种植的抗旱性强的桑树品种具有重要意义。

植物叶片功能性状主要包括叶片解剖结构和生理等一系列可测量的指标(孙梅等，2017)，与植物抗旱性密切相关(Cheng et al., 2017; 李金航等，2020; Li et al., 2021)。在干旱胁迫下，植物细胞内会产生大量活性氧(Cruz de Carvalho, 2008)，导致质膜发生脂质化过氧反应，产生丙二醛（malondialdehyde，MDA），造成氧化损伤。为了抵御这种损伤，植物体内的自由基抗氧化物酶，如超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、过氧化物酶（peroxidase，POD）、过氧化氢酶（catalase，CAT），会被激活以清除活性氧(叶龙华

等，2014；Wang et al., 2019；黄加煌等，2024)。随着干旱胁迫的加剧，超过某个临界点时叶绿体会变形，其片层结构会遭到破坏，进而导致叶绿素的含量会出现降低趋势(张小娇等，2014)。此外，植物通过增加脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等渗透调节物质的含量来降低渗透势，增强对干旱的抵抗力，这些物质的含量直接反映了植物对逆境的适应能力（Wang et al., 2019；黄加煌等，2024）。研究表明，抗旱性强的植物相较于抗旱性弱的植物，具有较低的MDA含量、较强的抗氧化酶活性和更多的渗透调节物质（李春情等，2024）。在干旱环境下，叶功能性状的解剖结构也表现出特有的特征，抗旱性强的植物叶片通常具有较厚的角质层、发达的栅栏组织、较高的栅栏组织/海绵组织的比例和气孔密度、以及排列紧密且较细长的细胞等特征(邱权等，2014；Oliveira et al., 2017)。例如，在对桑树同源多倍体叶片的解剖结构与抗旱性关联性的研究发现，抗旱性强的四倍体相对于抗旱性较弱的二倍体亲本，表现出海绵组织厚度、栅栏组织厚度、下表皮厚度、叶片厚度、叶片紧实度增加的特点(韩淑华等，2021)。

目前，对桑树的抗旱性研究多从分子水平(曾睿等，2022)、解剖结构（韩淑华等，2021；沈萩荻等，2019）、干旱胁迫的生理响应(莫荣利等，2017；刘丹等，2022)某一方面的植物功能性状特征引起广泛关注，少有研究将解剖结构和生理两方面的叶功能性状指标相结合。然而，植物的抗旱性是多个指标共同作用的结果，单一指标难以准确鉴定其抗旱性。孙冬婵等（2024）和孙明震等（2024）指出，植物抗旱性的评价需采用多指标综合分析方法，如主成分分析、隶属函数分析和聚类分析，以避免单一指标的局限性。因此，该研究以环江地区常见的 5 个桑树品种为试验对象，测定了叶绿素、渗透调节物质、MAD的含量和抗氧化酶活性等 12 个生理指标，以及叶片厚度、上下表皮厚度、栅栏组织、海绵组织、气孔大小、气孔密度等 12 个叶片解剖结构指标，共 24 个叶功能性状指标，结合主成分分析、隶属函数分析和聚类分析，旨在研究以下内容：（1）与 5 个桑树品种抗旱性相关的叶功能性状指标；（2）评价 5 个桑树品种的抗旱性。本研究结果为喀斯特地区筛选抗旱性强的桑树品种提供科学依据和理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验地点和材料

本试验所用桑树材料均取自广西农投时宜智慧桑园（环江园区，107º51′—108º43′ E、24º44′—25º33′ N，海拔 220 m），选用桂桑 5 号、桂桑 6 号、桂桑优 12、农桑 14 号、育711 号 5 个品种作为试验材料。各品种所选的试验个体生长在同一种植区域的三年生植株，均由前年冬季伐条后，今年春季（3 月，为旱季）从新枝条上生长出的植株叶片。依照王学奎(2018)的试验方法，分别从每个品种中选取 10 棵长势相近的植株采集第 6 至第 7 叶位的叶片，用于生理指标的测定。同时，再选取每个品种 5 个不同个体的第 6 至第 7 叶位的健康成熟叶片，用于解剖结构测定。分别装入自封袋带回实验室，放置 4 ℃冰箱中保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 生理指标的测定

采用丙酮-乙醇提取法测定叶绿素和类胡萝卜素含量(史沉鱼和韦云秀, 2021)；采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量(王学奎, 2018)；采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白含量(史沉鱼和韦云秀, 2021)；采用酸性茚三酮显色法测定游离脯氨酸含量(王学奎, 2018)；采用盐酸甲醇法测定花青素含量(史沉鱼等, 2024)；采用氮蓝四唑（NBT）光还原法测定超氧化物歧化酶活性(王学奎, 2018)；采用愈创木酚法测定过氧化物酶活性(刘新和刘洪庆, 2018)；采用过氧化氢法测定过氧化氢酶活性(王学奎, 2018)；采用硫代巴比妥酸（TBA）法测定丙二醛含量(王学奎, 2018)。

1.2.2 解剖结构的测定

用于解剖的叶片先避开主脉和二级脉，切成 1 cm^2 左右的小叶片，再放入装有Frankin离析液（H_2O_2:CH_2COOH= 1:1）的离心管中，70 ℃烘箱加热 4 h，冷却后清水洗净，使用1%的阿力新蓝染色 15 min，制成临时装片，放置光学显微镜下观察气孔并随机拍摄保存 5 个视野的照片，采用ImageJ 1.53c图形测量气孔面积即为气孔大小，气孔密度为气孔数量除以视野面积。

各品种取上述 5 片叶子沿着主脉和叶片进行徒手切片，先漂白 2 min，再依次用 1%的番红溶液染色 15 min和 1%的阿力斯亮蓝溶液染色 5 min，制成临时装片。于光学显微镜下观察并拍照，采用ImageJ 1.53c图形处理软件分别测定上下表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片厚度、导管长轴和短轴、导管壁厚度。导管加固系数为导管壁厚度与导管长轴的比值，单个导管直径按照椭圆面积进行计算。根据以下公式计算导管直径（D）(Scholz et al., 2013)：

$$D = [d^4/N]^{0.25} \tag{1}$$

式中：d为单个导管直径；N为导管系数。

1.3 数据处理与分析

使用R 4.1.0 版本的ggplot2 包进行柱形图作图。单因素方差分析（one-way ANOVA）、主成分分析（principal component analysis）、聚类分析（cluster analysis）均在SPSS 27.0 统计软件进行。单因素方差分析用于分析不同品种各指标间的差异；主成分分析选出能代表 5 个桑树品种的主要抗旱性指标，用于隶属函数进行综合评价和系统聚类分析；隶属函数计算公式如下(王谧等，2014)：

$$U(X_i) = \frac{(X_i - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \tag{2}$$

式中：X_i为某一指标的测定值；$X_{\min}$为某一测定指标的最小值；$X_{\max}$为某一测定指标的最大值。用反隶属函数计算与抗旱性呈负相关的指标，公式如下：

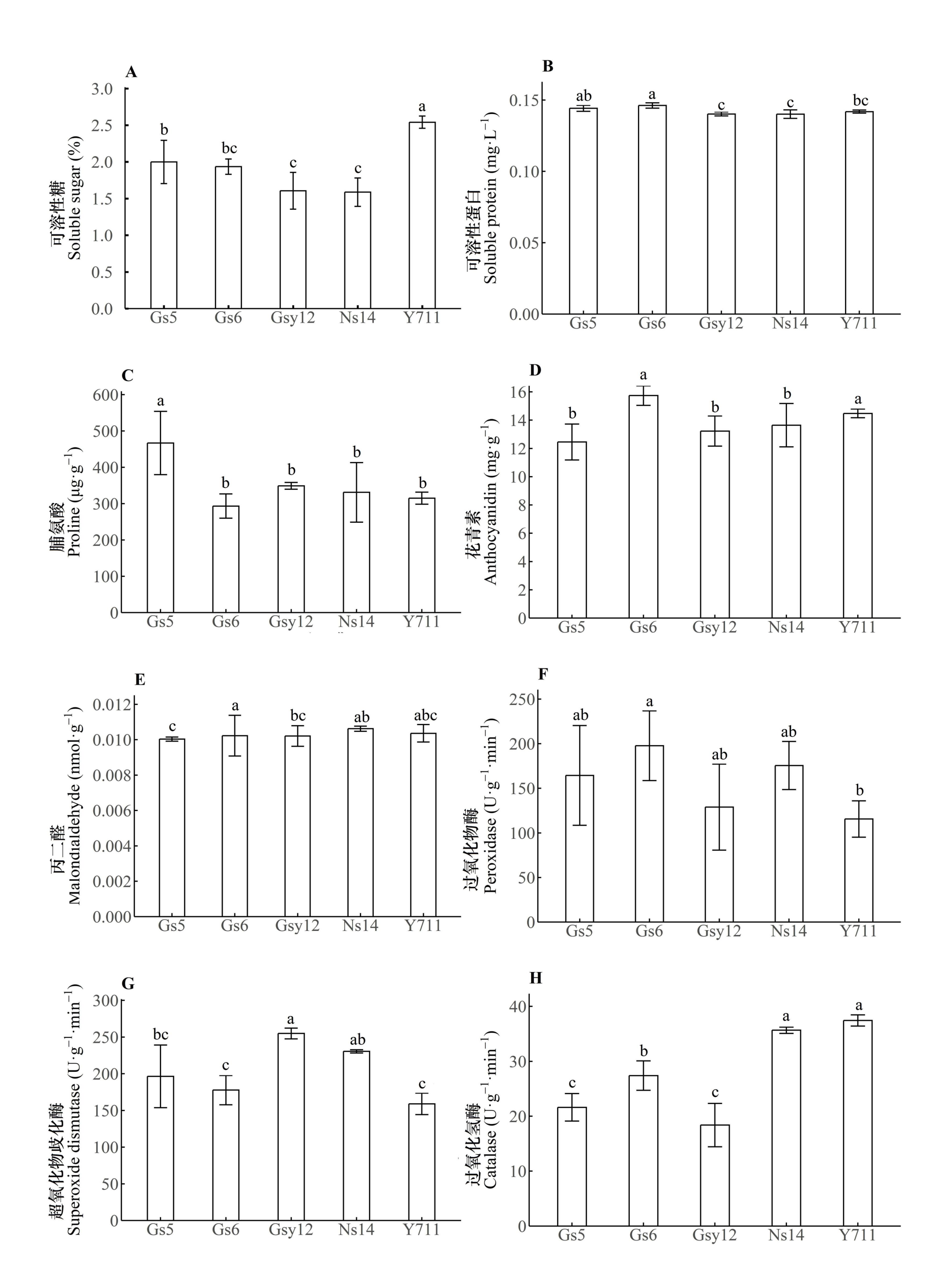
$$U(X_i) = 1 - \frac{(X_i - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \tag{3}$$

将各指标的隶属函数值进行累加，取其平均值，得到综合评定指数，其值越大表示抗旱性越强。

2 结果分析

2.1 5 个桑树品种的叶功能性状

可溶性糖含量最低的是农桑 14 号且其类胡萝卜素含量也最低（图 1：A；表 1），但叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素的含量最高（表 1）。桂桑 6 号具有最高的可溶性蛋白、花青素、丙二醛的含量和POD活性（图 1：B、D、E、F），但其脯氨酸含量最低（图 1：C）。脯氨酸含量最高的是桂桑 5 号，且其胡萝卜素含量也最高（图 1：C；表 1），而丙二醛、叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素的含量最低（图 1：E；表 1）；桂桑优 12 的SOD活性最高（图 1：G）；SOD活性最低的是育 711 号，且其POD活性也最低（图 1：F、G），而类胡萝卜素、可溶性糖含量以及CAT活性最高（表 1；图 1：A、H）。



Gs5. 桂桑 5 号；**Gs6**. 桂桑 6 号；**Gsy12**. 桂桑优 12；Ns14. 农桑 14 号；**Y711**. 育 711。不同字母表示不同品种间差异显著($P<0.05$)。

Gs5. Guisang 5; **Gs6**. Guisang 6; **Gsy12**. Guisangyou12; Ns14. Nongsang 14; **Y711**. Yu 711. Different lowercase letters indicate significant differences between varieties ($P<0.05$).

图 1 5 个桑树品种的叶片生理指标

Fig. 1 Leaf physiological indexes of 5 mulberry varieties

表 1 不同桑树品种叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量

Table 1 Chlorophyll and carotenoid contents in leaves of different mulberry varieties

品种 Variety	叶绿素a Chlorophyll a （mg·g^{-1}）	叶绿素b Chlorophyll b （mg·g^{-1}）	总叶绿素 Total chlorophyll （mg·g^{-1}）	类胡萝卜素 Carotenoid （mg·g^{-1}）
桂桑 5 号 Guisang 5	1.89±0.03a	0.82±0.05c	2.71±0.07c	1.17±0.02a
桂桑 6 号 Guisang 6	1.93±0.01a	1.04±0.03b	2.97±0.04b	1.07±0.01b
桂桑优 12 Guisangyou 12	1.9±0.08a	0.86±0.13c	2.76±0.20c	1.15±0.06a
农桑 14 号 Nongsang 14	1.95±0.01a	1.25±0.03a	3.20±0.04a	0.98±0.02c
育 711 号 Yu 711	1.91±0.04a	0.85±0.07c	2.76±0.10c	1.17±0.03a

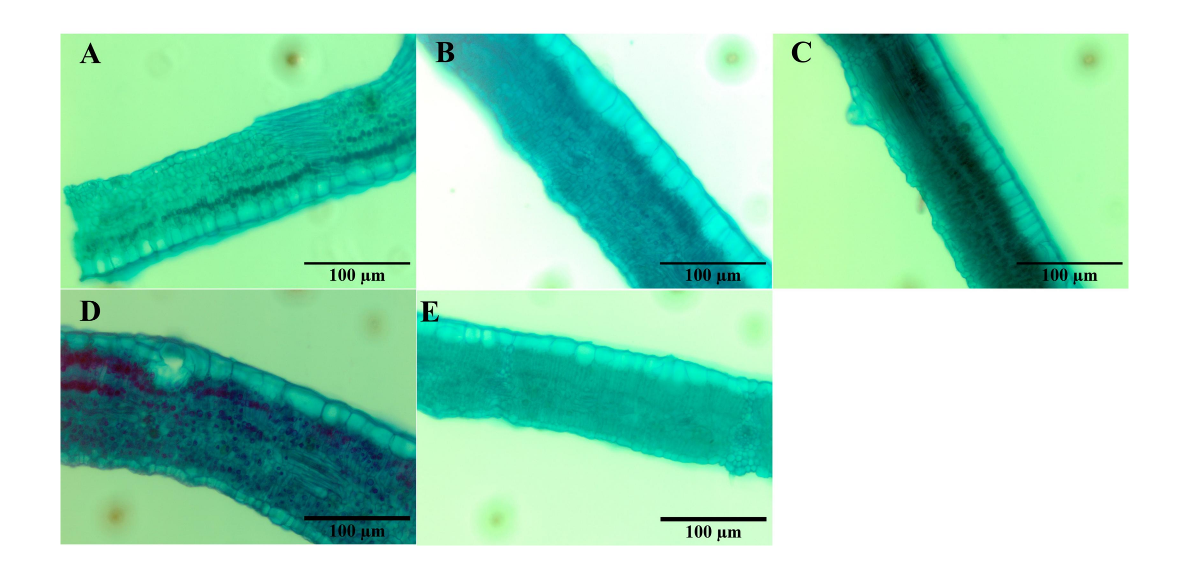
注：同列不同字母表示同一指标差异显著。

Note: Different letters in the same column indicate significant differences in the same indicator.

不同桑树品种的叶片在解剖结构组成上是相似的，都是由上、下表皮、栅栏组织、海绵组织以及维管束组成。上、下表皮均为单层细胞，栅栏组织位于上表皮下面，为长柱状，排列紧密但长度不一，农桑 14 号除了在上表皮下含有栅栏组织，在靠近下表皮部分还含有一层栅栏组织，海绵组织位于两层栅栏组织中间，多为短柱状，排列紧密（图 2）。维管束是叶片主脉的核心部分，由木质部和韧皮部组成，木质部位于维管束最内侧，主要由导管组成（图 3）。

由表 2 可知，导管直径变化范围为 13.67~17.62 μm，最大值为桂桑 5 号，同时其导管加固系数值最小，为 0.08 μm，上表皮和叶片的厚度最薄，分别为 17.82 μm、86.55 μm，气孔最小，面积为 121.47 μm^2，气孔密度最大，为 47.6 ind.·mm^{-2}。导管加固系数最高的为桂桑 6 号，为 0.09 μm，其次为农桑 14 号和桂桑优 12，桂桑 6 号的上表皮和叶片的厚度最厚，分别为 22.78 μm、107.47 μm，气孔密度最小，为 30.6 ind.·mm^{-2}；桂桑优 12 的下表皮最薄，为 7.38 μm，海绵组织厚度最大，为 42.09 μm，叶片组织紧密度最低，为 21.98%，疏松度最高，为 43.95%，栅海比最低，为 0.54；下表皮厚度最大的是农桑 14 号，为 8.43 μm，栅栏组织厚度最大，为 26.66 μm，叶片组织结构紧密度最高，为 27.95%；育 711 号的栅海比和气孔最大，分别为 0.91、201.59 μm^2。

综上所述，5 个桑树品种的各项指标表现各异且在不同指标上的排序有所不同，难以通过单一指标评价抗旱性。



A. 桂桑 5 号；**B**. 桂桑 6 号；**C**. 桂桑优 12；**D**. 农桑 14 号；**E**. 育 711 号。下同。

A. Guisang 5 ; **B**. Guisang 6; **C**. Guisangyou 12 ; **D**. Nongsang 14 ; **E**. Yu 711. The same below.

图 2 5 个桑树品种的叶片解剖

Fig. 2 Leaf anatomy of 5 mulberry varieties

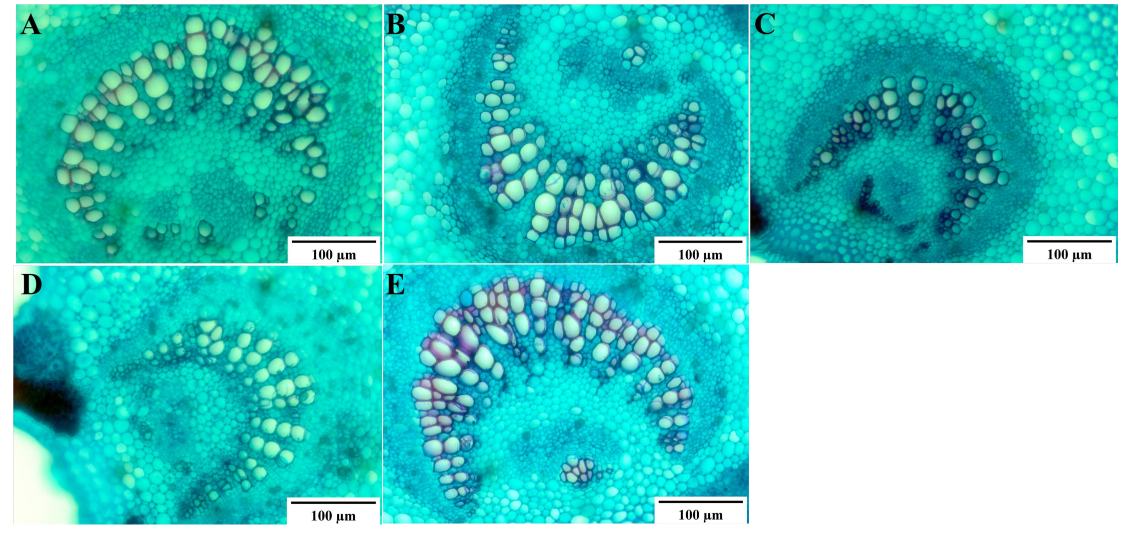


图 3 5 个桑树品种主脉解剖

Fig.3 Main vein anatomy of 5 mulberry varieties

表 2 5 个桑树品种的叶片解剖指标分析

Table 2 Analysis of leaf anatomical indexes of 5 mulberry cultivars

指标 Index	桂桑 5 号 Guisang 5	桂桑 6 号 Guisang 6	桂桑优 12 Guisangyou 6	农桑 14 号 Nongsang 14	育 711 号 Yu 711
导管直径 Conduit diameter （µm）	17.62±2.27a	17.02±1.01a	13.67±0.83b	15.83±0.96a	16±1.52a
导管加固系数 Conduit wall reinforcement	0.08±0.01a	0.09±0.02a	0.09±0.01a	0.09±0.01a	0.08±0.02a
上表皮厚度 Adaxial epidermis thickness （µm）	17.82±2.37a	22.78±4.1a	18.52±2.78a	18.19±3.89a	19.72±3.85a
下表皮厚度 Abaxial epidermis thickness	8.05±1.78a	7.83±1.57a	7.38±1.47a	8.43±1.52a	7.84±1.88a

（μm）					
栅栏组织厚度 Palisade mesophyll thickness （μm）	19.37±2.21b	24.16±5.62ab	20.64±3.08ab	26.66±6.26a	25.4±2.44ab
海绵组织厚度 Spongy mesophyll thickness （μm）	25.27±4.21c	36.75±6.93ab	42.09±13.19a	33.56±5.6abc	28.33±2.93bc
叶片厚度 Leaf thickness （μm）	86.55±7.77a	107.47±18.23a	94.78±13.63a	96.02±24.12a	100.4±11.76a
叶片组织结构紧密度 Leaf tissue structure tightness （%）	22.36±1.28b	22.32±3.02b	21.98±3.68b	27.95±2.72a	25.52±3.27ab
叶片组织结构疏松度 Leaf tissue structure looseness （%）	29.24±4.49b	34.8±8.28ab	43.95±9.92a	35.87±5.53ab	28.29±1.72b
栅海比 Ratio of palisade to spongy	0.77±0.08ab	0.68±0.21bc	0.54±0.21c	0.79±0.09ab	0.91±0.14a
气孔大小 Stomatal size （μm^2）	121.47±9.55b	172.47±34.46a	125.22±19.13b	168.73±22.34a	201.59±34.69a
气孔密度 Stomatal density （$ind.\cdot mm^{-2}$）	47.6±10.45a	30.6±7.92b	43.8±13.75ab	32.8±7.79ab	35.4±15.88ab

注：同行不同字母表示同一指标差异显著.

Note: Different letters in the same line indicate significant differences in the same indicator.

2.2 5 个桑树品种叶功能性状指标的主成分分析

将 5 个桑树品种的叶功能性状指标进行主成分分析，由表 3 可以看出，经主成分提取后，3 个主成分的累积贡献率已达 90.219%，保留了 24 个指标的大部分信息。根据载荷值越大，其对主成分贡献越大、典型性越强的原则，对 3 个主成分进行分析。第一主成分贡献率最高，为 40.749%，丙二醛、叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、类胡萝卜素、气孔大小、气孔密度具有较大的载荷值；第二主成分贡献率为 25.132%，超氧化物歧化酶这一指标具有较大的载荷值；第三主成分贡献率为 24.338%，导管加固系数、海绵组织具有较大的载荷值。3 个主成分包含的 10 个指标载荷值高，包含的信息量大，因此，筛选出丙二醛等 10 个指标作为评价 5 个不同桑树品种的抗旱性强弱的指标。

表 3 主成分分析结果

Table 3 Analysis of principal components

指标 Index	成分 1 Component 1	成分 2 Component 2	成分 3 Component 3
可溶性糖 Soluble sugar	-0.661	0.679	-0.29
可溶性蛋白 Soluble protein	-0.203	0.551	0.76
脯氨酸 Proline	-0.635	-0.436	0.426
花青素 Anthocyanidin	0.424	0.733	-0.004
丙二醛 Malondialdehyde	0.832	0.547	0.026
叶绿素a Chlorophyll a	0.875	0.384	-0.123
叶绿素b Chlorophyll b	0.89	0.2	0.007
总叶绿素 Total chlorophyll	0.892	0.222	-0.009
类胡萝卜	-0.905	-0.154	-0.064

Carotenoid			
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	0.42	-0.902	-0.041
过氧化物酶 Peroxidase	0.531	0.273	0.78
过氧化氢酶 Catalase	0.226	0.715	-0.551
导管加固系数 Conduit wall reinforcement	0.229	-0.35	0.87
导管直径 Hydraulic conduit diameter	0.354	0.566	-0.56
上表皮厚度 Upper epidermis thickness	0.607	0.455	0.602
栅栏组织厚度 Palisade mesophyll thickness	0.79	-0.572	0.085
海绵组织厚度 Spongy mesophyll thickness	-0.281	-0.268	0.92
下表皮厚度 Lower epidermis thickness	0.289	-0.35	-0.644
叶片厚度 Leaf thickness	0.725	0.058	0.673
叶片组织结构紧密度 Leaf tissue structure tightness	0.464	-0.798	-0.359
叶片组织结构疏松度 Leaf tissue structure looseness	0.464	-0.798	-0.359
栅海比 Ratio of palisade to spongy	0.685	-0.074	-0.718
气孔大小 Stomatal size	0.971	-0.213	0.05
气孔密度 Stomatal density	-0.803	0.28	-0.367
特征值 Characteristic value	9.78	6.032	5.841
方差贡献率 Variance contribution rate（%）	40.749	25.132	24.338
累计贡献率 Accumulated contribution rate（%）	40.749	65.881	90.219

2.3 与抗旱性相关的叶功能性状指标的隶属函数分析

通过主成分分析法从 24 项指标中筛选出丙二醛、叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、类胡萝卜素、气孔大小、气孔密度、超氧化物歧化酶、导管加固系数、海绵组织 10 个指标进行隶属函数分析，隶属函数平均值越大，表示该植物的抗旱性越强。10 个指标中与植物抗旱性呈负相关的丙二醛、气孔大小、海绵组织 3 个指标用反隶属函数计算，7 个正相关的指标用正隶属函数计算。由表 4 可知 5 个桑树品种的隶属平均值分别为 0.574、0.559、0.538、0.404、0.367，因此抗旱性从强到弱依次为农桑 14 号 ＞ 桂桑优 12＞ 桂桑 5 号 ＞ 桂桑 6 号 ＞ 育 711 号。

表 4 隶属函数分析结果

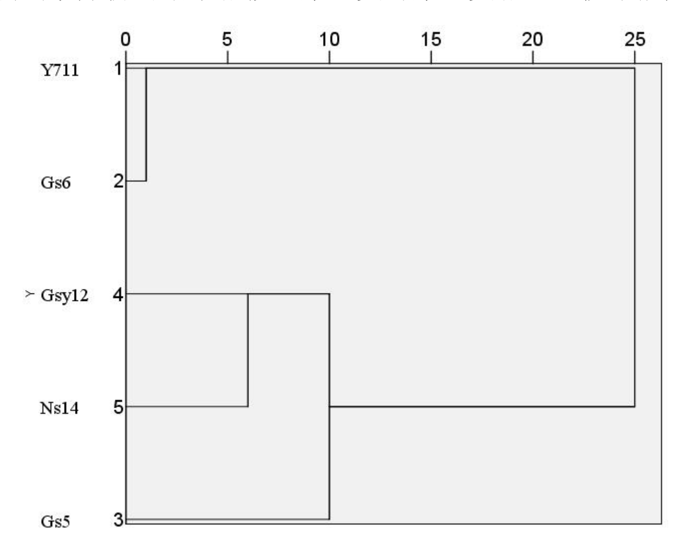
Table 4 Results of membership function analysis

指标 Index	桂桑 5 号 Guisang 5	桂桑 6 号 Guisang 6	桂桑优 12 Guisangyou 12	农桑 14 号 Nongsang 14	育 711 号 Yu 711
叶绿素a Chlorophyll a	0.000	0.630	0.158	1.000	0.379
叶绿素b Chlorophyll b	0.000	0.508	0.088	1.000	0.050
总叶绿素 Total chlorophyll	0.000	0.524	0.097	1.000	0.094

类胡萝卜 Carotenoid	0.989	0.493	0.918	0.000	1.000
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	0.390	0.196	1.000	0.746	0.000
丙二醛 Malondialdehyde	1.000	0.000	0.765	0.140	0.572
导管加固系数 Conduit wall reinforcement	0.001	1.003	0.833	0.803	0.478
海绵组织厚度 Spongy mesophyll thickness	1.000	0.317	0.000	0.507	0.818
气孔大小 Stomatal size	1.000	0.363	0.953	0.410	0.000
气孔密度 Stomatal density	1.000	0.000	0.776	0.129	0.282
平均隶属函数值 Mean membership function	0.538	0.404	0.559	0.574	0.367
综合排名 Comprehensive ranking	3	4	2	1	5

2.4 与抗旱性相关的叶功能性状指标的聚类分析

利用系统聚类对主成分筛选出的10个指标进行聚类分析。由图4结果可以看出，在标度为25时可将其分为两类：第一类是育711号、桂桑6号；第二类是桂桑优12、农桑14号、桂桑5号。同一类说明在结构上具有较大的相似性，进化演变相似性较大，抗旱性也类似，这与前面隶属函数分析的结果相似，第一类与第二类相比，抗旱能力排名靠后。



物种缩写名同图1。

Species abbreviations are shown in Fig 1.

图4 聚类分析

Fig. 4 Cluster analysis

3 讨论

植物的抗旱性是受多种因素的共同作用，涉及叶功能性状的多个特征，因此需要结合多个指标综合评价抗旱性(李瑞雪等，2017；孙梅等，2017)。如影响高山海拔地区油茶的抗旱性主要指标为栅海比、叶面积、叶脉厚度和栅栏组织厚度4个指标（孙冬婵等，2024)；栅栏组织厚度、叶片组织结构的紧密度和疏松度、栅海比是5个山核桃品种的抗旱性典型指标(季琳琳等，2023)；张庆华等（2018）发现CAT、POD、MAD含量等5个生理指标是

不同草莓品种抗旱性鉴定的重要指标。该研究中，桂桑 6 号虽然在解剖结构上具有最高的气孔密度和导管加固系数，但在生理方面，其MAD含量最高，SOD活性最低，因此抗旱性偏低，而抗旱性最强的农桑 14 号不仅拥有较高的导管加固系数，也含有最高的叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量、较强的SOD活性，表明桑树抗旱性需基于叶功能性状的多指标综合评价，单一指标无法准确评价。

本文对 24 个指标进行主成分分析，筛选出叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、胡萝卜素、SOD活性、MAD含量、气孔大小、气孔密度、导管加固系数、海绵组织厚度 10 个指标作为评价桑树抗旱性的叶功能性状指标。以往在对桑树的抗旱性研究中，将栅栏组织厚度、叶片厚度、海绵组织厚度、下表皮厚度和上角质层厚度 5 个解剖结构指标作为桑树抗旱性的评价指标（韩淑华等，2021），将MAD、CAT、POD、SOD、叶绿素、脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖 8 个生理指标用来评价 9 个桑树品种的耐旱性(刘丹等，2022)。该研究结果与上述研究部分指标存在差异，在该研究的主成分分析中，栅栏组织厚度、叶片厚度、下表皮厚度、可溶性蛋白质、可溶性糖，以及POD、CAT的载荷值低于 80%，不作为抗旱性评价的相关指标，这可能与桑树品种间的遗传差异或是其所处不同的生长环境相关。一方面，不同桑树品种的抗旱基因存在差异，这些差异可能导致它们在响应干旱胁迫时的叶功能性状有所不同(曾睿等，2022)，所以，某些指标可能在特定品种中更能反映抗旱性。另一方面，植物的抗旱性与其生长环境的干旱胁迫程度密切相关。刘丹等（2022）的研究进行不同梯度的干旱胁迫处理，这种处理不可避免地会导致植物生理指标发生相应的变化。相比之下，本研究聚焦于在喀斯特自然环境条件下生长的桑树，该环境下的干旱胁迫可能与实验室条件存在差异，因此不一定会引起所有生理指标的同程度响应。

植物的抗旱性评价需要使用隶属函数分析和系统聚类分析相互验证，以证实结果的可靠性。本研究通过隶属函数分析和系统聚类分析将主成分分析筛选出的 10 个能代表抗旱能力的指标分别进行分析，隶属函数分析得出 5 个桑树品种的抗旱性由强到弱依次农桑 14 号、桂桑优 12、桂桑 5 号、桂桑 6 号、育 711 号，聚类分析结果将农桑 14 号、桂桑优 12、桂桑 5 号成为一类，桂桑 6 号、育 711 号组成另一类，两者的结果相互印证，增强了结果的可靠性，这与先前研究在相同分析框架下对 8 种桑科榕属植物的解剖结构进行抗逆性综合评价的研究结果相吻合，以及在干旱胁迫条件下对不同草莓品种进行生理指标测定以评估其抗旱性的研究结论相一致(张庆华等，2018；朱栗琼等，2012)。该研究发现，农桑 14 号、桂桑优 12、桂桑 5 号这三种抗旱性强的品种的抗旱性代表指标的平均隶属函数值都不低于 0.5，表明与另外两个桑树品种相比，它们具有更为高效的生理调节机制和优化的解剖结构。当受到干旱胁迫时，抗旱性强的植物通常可以维持较高的叶绿素含量以保持光合作用正常进行，并且更强的SOD活性可以清除活性氧、降低MDA的生成，从而减轻氧化损伤(张庆华等，2018；黄加煌等， 2024)。此外，在解剖结构方面，导管加固系数与植物抗栓塞能力（代表植物的抗旱性，一般用导水率丧失 50%时的木质部水势P_{50}表示）密切相关(覃兰丽等，2022)，可作为预测P_{50}很好的参数，其值越高，代表抗旱性越强(Scholz et al., 2013)。筛选出的抗旱品种为今后喀斯特地区桑树的选育和栽培提供科学依据，未来的研究可以从分子水平上探索与抗旱性指标相关的基因表达。

参考文献：

ARITSARA A, NI MY, WANG YQ, et al., 2023. Tree growth is correlated with hydraulic efficiency and safety across 22 tree species in a subtropical karst forest [J]. Tree Physiology, 43(8): 1307-1318.

CENG R, REN YH, QI WL, et al., 2022. Comparative transcriptome analysis of drought stress responses in mulberries of differing drought resistances [J]. Journal of Southern Agriculture, 53(3): 684-692. [曾睿，任迎虹，祁伟亮，等，2022. 不同桑树品种响应干旱胁迫的比较

转录组学分析 [J]. 南方农业学报，53(3)：684-692.]
CHEN ZQ, ZOU LF, DU JL, et al., 2023. Analysis on influencing factors of development of sericulture industry in Guangxi [J]. Guangxi Sericulture, 60(3): 45-49. [陈张晴，邹凌峰，杜谨利，等，2023. 广西蚕桑产业发展的影响因素分析 [J]. 广西蚕业，60(3)：45-49.]
CHENG YG, LIN NM, SHAN Y, et al., 2017. Morphological, physiological and anatomical traits of plant functional types in temperate grasslands along a large-scale aridity gradient in northeastern China [J]. Scientific Reports, 7(1): 1-10.
CRUZ De CARVALHO MH, 2008. Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling [J]. Plant Signaling & Behavior, 3(3): 156-165.
JIAO F, LUO R, DAI X, et al., 2020. Chromosome-level reference genome and population genomic analysis provide insights into the evolution and improvement of domesticated mulberry (*morus alba*) [J]. Molecular Plant, 13(7): 1001-1012.
LI S, HAMANI AKM, ZHANG Y, et al., 2021. Coordination of leaf hydraulic, anatomical, and economical traits in tomato seedlings acclimation to long-term drought [J]. BMC Plant Biology, 21(1): 536.
HAN SH, ZHANG R, LU X, et al., 2021. Observation on anatomical structure of autopolyploid mulberry leaf and correlation analysis with drought resistance [J]. Science of Sericulture, 47(2): 119-126. [韩淑华，张芮，陆鑫，等，2021. 桑树同源多倍体叶片解剖结构观察及与抗旱性的关联性分析 [J]. 蚕业科学，47(2)：119-126.]
HUANG JH, MENG YA, SONG XR, et al., 2024. Physiological characteristics and response mechanisms of different drought-resistant rapeseed varieties under PEG stress [J]. Subtropical Agriculture Research, 20(2): 93-101. [黄加煌，孟奕忝，宋雪蕊，等，2024. PEG 胁迫下不同抗旱性油菜品种的生理特性及其响应机制 [J]. 亚热带农业研究，20(2)：93-101.]
HUANG KD, CHEN ZF, WEI ZH, 2023. Thoughts and suggestions on the high quality development of sericulture industry in Hechi city [J]. 60(2): 39-44. [黄康东，陈振烽，韦志惠，2023. 河池市蚕桑产业高质量发展的思考与对策建议 [J]. 广西蚕业，60(2)：39-44.]
JI LL, CHEN SC, WU ZH, et al., 2023. Drought resistances analysis of different carya cathayensis based on leaves structure analysis [J]. Non-wood Forest Research, 41(2): 21-29. [季琳琳，陈素传，吴志辉，等，2023. 基于叶片解剖结构的山核桃品种的抗旱性评价 [J]. 经济林研究，41(2)：21-29.]
LI CQ, LIU XY, YAN P, et al., 2024. Physiological identification and comprehensive evaluation of drought resistance of different maize varieties [J]. Crops, (4): 253-262. [李春情，刘翔宇，闫鹏，等，2024. 不同玉米品种抗旱性的生理鉴定与综合评价 [J]. 作物杂志，(4)：253-262.]
LI JH, ZHU JY, JANDUG C M B, et al., 2020. Relationship between leaf functional trait variation of *Cotinus coggygria* seedling and location geographical-climatic factors under drought stress [J]. Journal of Beijing Forestry University, 42(2): 68-78. [李金航，朱济友，JANDUG C MB，等，2020. 干旱胁迫环境中黄栌幼苗叶功能性状变异与产地地理—气候因子的关系 [J]. 北京林业大学学报，42(2)：68-78.]
LI RX, SUN RX, WANG TC, et al., 2017. Research progress on identification and evaluation methods，and mechanism of drought resistance in plants [J]. Biotechnology Bulletin, 33(7): 40-48. [李瑞雪，孙任洁，汪泰初，等，2017. 植物抗旱性鉴定评价方法及抗旱机制研究进展 [J]. 生物技术通报，33(7)：40-48.]

LIU D, QIU ZY, LI B, et al., 2022. Comprehensive evaluation of drought tolerance of nine practical mulberry varieties by membership function method [J]. Newsletter of Sericultural Science, 42(4): 1-11. [刘丹，邱长玉，李标，等，2022. 用隶属函数法综合评价9个实用桑树品种的耐旱性 [J]. 蚕学通讯，42(4)：1-11.]

LIU X, LIU H, 2018. Biology practice teaching reform series of textbooks plant physiology experiment [M]. Beijing: Higher Education Press: 1-107. [刘新，刘洪庆，2018. 生物学实践教学改革系列教材植物生理学实验 [M]. 北京：高等教育出版社：1-107.]

MO RL, LI Y, YU C, et al., 2017. Effect of water stress on physiological biochemical characteristics of mulberry [J]. Hubei Agricultural Sciences, 56(24): 4815-4820. [莫荣利，李勇，于翠，等，2017. 水分胁迫对桑树生理生化特性的影响 [J]. 湖北农业科学，56(24)：4815-4820.]

OLIVEIRA I, MEYER A, AFONSO S, et al., 2018. Compared leaf anatomy and water relations of commercial and traditional *Prunus dulcis* (Mill.) cultivars under rain-fed conditions [J]. Scientia Horticulturae, 229(9): 229- 226.

QIN J, HE NX, HUANG XZ, et al., 2010. Development of muberry ecologica industry and sericulture [J]. Acta Sericologica Sinica, 36(6): 984-989. [秦俭，何宁佳，黄先智，等，2010. 桑树生态产业与蚕丝业的发展 [J]. 蚕业科学，36(6)：984-989.]

QIN LL, PAN YK, ZHANG TH, et al., 2022. Contrasting hydraulic safety margins of three cycads [J]. Guihaia, 42(9): 1602-1611. [覃兰丽，庞玉堃，张天浩，等，2022. 三种苏铁植物呈现出迥异的水力安全边界 [J]. 广西植物，42(9)：1602-1611.]

QIU Q, PAN X, LI JY, et al., 2014. Morphological traits and physiological characteristics in drought tolerance in 20 shrub species on the Qinghai-Xizang plateau [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 38(6): 562-575. [邱权，潘昕，李吉跃，等，2014. 青藏高原 20 种灌木抗旱形态和生理特征 [J]. 植物生态学报，38(6)：562-575.]

QUEREJETA JI, ESTRADA-MEDINA H, ALLEN MF, et al., 2007. Water source partitioning among trees growing on shallow karst soils in a seasonally dry tropical climate [J]. Oecologia, 152(1): 26-36.

SCHOLZ A, KLEPSCH M, KARIMI Z, et al., 2013. How to quantify conduits in wood? [J]. Frontiers in Plant Science, 4(56): 56-67.

SCHWINNING S. 2008. The water relations of two evergreen tree species in a karst savanna [J]. Oecologia, 158(3): 373-383.

SHEN QQ, WU Y, LIU L, et al., 2019. A preliminary study on anatomical characteristics and water transporting capacity of petioles from six varieties originated from different habitations [J]. Acta Sericologica Sinica, 45(1): 1-8. [沈萩荻，吴艳，刘利，等，2019. 6 个种源地不同桑树品种叶柄解剖结构与水分运输能力初探 [J]. 蚕业科学，45(1)：1-8.]

SHI CY, WEI YX, 2021. Alleviating effect of brassinolide on physiological characteristics of tomato seedlings under Pb stress [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 62(8): 1530-1535. [史沉鱼，韦云秀，2021. 油菜素内酯对 Pb 胁迫下番茄幼苗生理特性的缓解效应 [J]. 浙江农业科学，62(8)：1530-1535.]

SHI CY, WEI FL, HUANG CY, et al., 2024. Effects of exogenous on the physiological characteristics of tomato seed lings under Pb stress [J]. China Cucurbits and Vegetables, 37(5): 115-123. [史沉鱼，韦芳灵，黄彩腰，等，2024. 外源独角金内酯对铅胁迫下番茄幼苗生理特性的缓解效应 [J]. 中国瓜菜，37(5)：115-123.]

SHI LH, MOU ZM, YAO J, 2005. Cell membrance damage and change of protective enzymes’

activity in different mulberry varieties under soil water stress [J]. Acta Sericologica Sinica, 31(1): 13-17. [时连辉，牟志美，姚健，2005. 不同桑树品种在土壤水分胁迫下膜伤害和保护酶活性变化 [J]. 蚕业科学，31(1)：13-17.]

SUN DC, GAO C, SONG QL, et al., 2024. The relationship between leaf anatomy of *Camellia* and drought resistance in high altitude area [J]. Guihaia: 1-23[2025-02-18]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20240830.0901.002.html. [孙冬婵，高超，宋启玲，等，2024. 高海拔地区油茶叶片解剖结构与抗旱性关系研究 [J]. 广西植物：1-23[2025-02-18]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20240830.0901.002.html.]

SUN M, TIAN K, ZHANG Y, et al., 2017. Research on leaf functional traits and their environmental adaptation [J]. Plant Science Journal, 35(6): 940-949. [孙梅，田昆，张贇，等，2017. 植物叶片功能性状及其环境适应研究 [J]. 植物科学学报，35(6)：940-949.]

SUN MZ, LIU T, DENG XP, et al., 2024. Evaluation of drought resistance of dwarf banana based on leaf anatomical structure [J]. South China Fruits, 53(4): 95-100. [孙明震，刘涛，邓祥平，等，2024. 基于叶片解剖结构的矮秆蕉抗旱性评价 [J]. 中国南方果树，53(4)：95-100.]

TANG YM, LIU DAN, QIU ZY, et al., 2022. Investigation on agronomic traits of germplasm resources of 27 mulberry cultivars including Guizhuang 94-2158 and analysis of their correlation with leaf yield [J]. China Sericulture, 43(3): 1-3. [唐燕梅，刘丹，邱长玉，等，2022. 桂诱94－2158等27份桑树种质资源农艺性状的调查及其与产叶量的相关性分析 [J]. 中国蚕业，43(3)：1-3.]

WANG M, WANG F, WANG J, 2014. Evaluation of potato drought resistance by subordinate function [J]. Journal of Yunnan Agricultural University(Natural Science), 29(4): 476-481. [王谧，王芳，王舰，2014. 应用隶属函数法对马铃薯进行抗旱性综合评价 [J]. 云南农业大学学报(自然科学)，29(4)：476-481.]

WANG XK, 2018. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press:1-175. [王学奎，2018. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京：高等教育出版社：1-175.]

WANG XP, LIU HL, YU FL, et al., 2019. Differential activity of the antioxidant defence system and alterations in the accumulation of osmolyte and reactive oxygen species under drought stress and recovery in rice (*Oryza sativa* L.) tillering [J]. Scientific Reports, 9(1): 8543.

YE LH, HUANG XL, XUE L, 2014. Effects of drought on leaf traits and drought-resistant physiology of trees [J]. World Forestry Research, 27(1): 29-34. [叶龙华，黄香兰，薛立，2014. 干旱对树木叶片性状及抗旱生理的影响 [J]. 世界林业研究，27(1)：29-34.]

ZHANG QH, XIANG FY, CENG XG, et al., 2018. Physiological response of different strawberry cultivars under drought stress and evaluation of drought resistance [J]. Northern Horticulture(2): 30-37. [张庆华，向发云，曾祥国，等，2018. 干旱胁迫下不同品种草莓生理响应及抗旱性评价 [J]. 北方园艺(2)：30-37.]

ZHANG XQ, QI J, CAO WX, et al. 2014. Effect of drought stress on physiological characteristics of *Elymus nutans* in seedling stage [J]. Grassland and Turf 34(5): 55-59. [张小娇，祁娟，曹文侠，等，2014. 干旱胁迫对垂穗披碱草苗期抗旱生理特性的影响 [J]. 草原与草坪，34(5)：55-59.]

ZHU LQ, WANG Y, ZHAO LJ, et al., 2012. Quantitative analysis on leaf anatomical structures and their stress resistance of eight *Ficus* species [J]. Guangxi Sciences, 19(1): 88-92. [朱栗琼，王勇，招礼军，等，2012. 8种榕属植物叶片解剖构造及抗逆性的数量分析 [J]. 广西科学，19(1)：88-92.]